

ДОСЛІДЖЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ТОКСИЧНОСТІ ТА ЕФЕКТИВНОСТІ РЕЧОВИНИ ВО-60 ЯК ПОТЕНЦІЙНОГО АНАЛГЕТИКА

Савченкова Л.В., Янкович С.І.

ДЗ «Луганський державний медичний університет»

Актуальність. Біль – найчастіший симптом, який зустрічається в клінічній практиці лікаря будь-якої спеціальності. Саме біль є однією з основних причин звернення хворих за медичною допомогою. Однак, близько 40% пацієнтів з помірною та важкою білью не отримують адекватного знеболення, що затримує відновлювальний період, ускладнює наслідки захворювання, призводить до різкого зниження якості життя, формуванню депресивних порушень, а також до підвищення вартості лікування [2,3,4,6].

Неопіодні аналгетики відносяться до найбільш широко вживаних лікарських засобів, тому що окрім аналгетичної дії, вони проявляють ще проти-запальний та жарознижуючий ефекти [2,6]. Саме такий широкий спектр фармакологічних ефектів і обумовлює в багатьох випадках занадто розповсюджене використання препаратів цієї групи без призначення лікаря (майже 70% пацієнтів), що і призводить до частого виникнення різноманітних небажаних ефектів [5,7,11,12].

Так, в Україні нестероїдні протизапальні засоби обумовлюють 46,5% всіх побічних ефектів фармакотерапії [3]. До найбільш поширених, майже в 30% випадків, можна віднести, порушення з боку шлунково-кишкового тракту, яке проявляється ерозіями та пептичними виразками шлунка, виразками тонкого та товстого кишківника [3,5,6].

Тому, незважаючи на великий асортимент та різноманітну хімічну структуру існуючих на світовому фармацевтичному ринку знеболюючих засобів, пошук та вивчення нових потенційних аналгетичних засобів залишається актуальним напрямом наукових досліджень [1,4].

Робота є фрагментом науково-дослідницької роботи кафедри клінічної фармакології та фармакотерапії «Клініко-експериментальне обґрунтування застосування препаратів метаболічного типу дії», номер держ. реєстрації 01080001969 (2009-2012).

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 74 білих мишах обох статей вагою 18-23 г. Піддослідні тварини утримувались в стандартних умовах виварію ДЗ «Луганський державний медичний університет» при природному освітленні й вільному доступі до води та їжі. Усі дослідження проводили відповідно до міжнародних правил поводження з тваринами (Директива 86/309 Європейської спільноти від 24 грудня 1986 р.) та комісії з біоетики ДЗ «Луганський державний медичний університет» (наказ № 6 від 02.09.2009).

Розробку дозового режиму проводилась згідно з рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України на моделі оцтовокислих «корчей» у мишей [1]. Больовий синдром відтворювали шляхом внутрішньоочеревинного введення 0,6% розчину оцтової кислоти з розрахунку 0,1 мл на 10 г маси тіла тварини. Хімічний подразник вводили через 1 годину після вве-

дення досліджуваних сполук та лікарських засобів у розрахунку 5, 10, 20 та 30 мг/кг з наступним спостереженням за тваринами протягом 20 хвилин [2,3].

Аналгетичну активність (АА) оцінювали за здатністю речовини зменшувати кількість корчів у дослідній групі тварин порівняно з контрольною і виражали у відсотках. Розрахунок проводили за формулою:

$$AA = \frac{C_k - C_d}{C_k} \times 100\%$$

де АА – аналгетична активність, %;

C_k – середня кількість корчів у контрольній групі;

C_d – середня кількість корчів у дослідній групі.

Вивчення гострої токсичності та ульцерогенної дії проводили згідно з рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України [1]. При вивченні гострої токсичності тварини отримували розчин досліджуваної речовини перорально (за 4 години до початку експерименту не отримували їжі) в дозі 1000, 2000, 5000 та 10000 мг/кг. Тривалість спостережень за станом тварин складала 14 днів.

При вивченні ульцерогенної дії тварин за 16 годин до початку експерименту повністю обмежили в доступі до їжі та води. Потім перорально вводили розчин дослідної речовини з розрахунку 50, 100, 1000 та 2000 мг/кг. Через 3 години проводили огляд та оцінку стану слизових оболонок шлунків тварин на наявність ерозій, виразок і інших змін, а також підраховували виразковий індекс (ВІ), який обчислювали за встановленою формулою:

$$VI = \frac{\% \text{ тварин із виразками} \times \text{площа виразки (у балах)}}{100\%} \quad [7]$$

Терапевтичний індекс (ТІ), який визначає безпечність потенційного лікарського засобу розраховували за співвідношенням LD_{50} / ED_{50} та індекс безпеки (ІБ), який являє собою співвідношення UD_{50} / ED_{50} і є показником безпечності будь-якого лікарського засобу [11].

Розрахунки параметрів токсичності та ефективності сполуки-лідера проводили пробітним методом Літчфілда-Вілкоксона [8]. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою комп'ютерних програм методами варіаційної статистики з використанням критерію Стюдента та непараметричних методів аналізу [9].

Результати та їх обговорення. Попередніми скринінговими дослідженнями було встановлено, що серед 92 вивчених сполук, найбільш високу аналгетичну активність проявляє сполука під лабораторним шифром ВО-60, АА якої в дозі 20 мг/кг дорівнювала 75,3%.

Першим етапом нинішнього дослідження було визначення параметрів ефективності сполуки ВО-60. Було встановлено, що при застосуванні сполуки в дозі 5 та 10 мг/кг, її АА складала 38,95% та

48,79%, відповідно. Як видно з табл. 1 при застосуванні ВО-60 в дозі 20 мг/кг АА складала 73,09%, що свідчить про дозозалежний знеболюючий ефект сполуки, що вивчається. В той же час при застосуванні ВО-60 в дозі 30 мг/кг АА останньої певною мірою знижується і складає 59,23% (див. табл. 1).

Після обробки результатів даного фрагменту досліджень методом пробіт-аналізу було отримано залежність величини АА від дози речовини, яка застосовувалась в експерименті (див. табл.2). Згідно отриманих результатів, ЕД50 сполуки ВО-60 складає 11,18 мг/кг, ЕД100 – 72,08 мг/кг.

Таблиця 1. Вивчення аналгетичної активності сполуки ВО-60

Доза речовини, мг/кг	Кількість «корчей»	Аналгетична активність, %
5	50,66±1,40	38,95±1,69
10	42,5±1,11	48,79±1,34
20	22,33±1,87	73,09±2,25
30	33,83±1,01	59,23±1,22
Контроль	83±1,3	

Таблиця 2. Параметри ефективності речовини ВО-60 при пероральному застосуванні

ЕД10, мг/кг	ЕД16, мг/кг	ЕД50, мг/кг	ЕД84, мг/кг	ЕД100, мг/кг
40,86	29,42	11,18	51,78	72,08

Як відомо, найбільш важливим на доклінічно-му етапі дослідження будь-якого потенційного лікарського засобу є визначення параметрів його токсичності. Саме тому наступним етапом нашого дослідження було вивчення гострої токсичності потенційного знеболюючого лікарського засобу (речовини ВО-60).

Важливо зазначити, що при введенні речовини ВО-60 в дозі 1000 мг/кг та 2000 мг/кг виживаність тварин складала 100%. При спостереженні за тваринами не було виявлено жодних змін параметрів функціонування життєво-важливих органів та систем. При введенні ж речовини ВО-60 в дозі 5000 мг/кг виживаність тварин складала 66,7%. Важливо зазначити, що загибель тварин була зафіксована на 8-9 добу спостереження. Стан решти тварин не

викликав будь-якої настороженості. Змін в роботі дихальної та серцево-судинної системи не встановлено, рухова активність тварин була задовільною, судом не спостерігалось, стан очей задовільний, болюси та урінації були в нормі. При введенні тваринам ВО-60 в дозі 10000 мг/кг виживаність тварин складала 50%. Загибель мишей була відмічена на 2-3 добу спостереження. У загиблих тварин було зафіксовано зниження рухливості, апатичність, уяльність. У решти тварин симптоми гострого отруєння не виявлені. При подальшому спостереженні стан тварин можна оцінити як задовільний.

В результаті проведеної серії досліджень методом пробіт-аналізу отримано залежність виживаності (летальності) мишей від доз речовини ВО-60, яке застосовувалось в експерименті (див. табл. 3).

Таблиця 3. Параметри гострої токсичності речовини ВО-60 при пероральному введенні

ЛД10, мг/кг	ЛД16, мг/кг	ЛД50, мг/кг	ЛД84, мг/кг	ЛД100, мг/кг
16976,92	15339,37	9526,86	3714,34	808,08

Згідно отриманих даних, ЛД50 для речовини ВО-60 складає 9526,86 мг/кг, що дає підставу віднести її до IV класу токсичності, тобто до малотоксичних сполук, згідно класифікації К.К. Сидорова [10].

Враховуючи отриманні за допомогою пробіт-аналізу параметри гострої токсичності та ефективності сполуки ВО-60, на їх основі було розраховано терапевтичний індекс (ТІ), який визначає безпеку потенційного лікарського засобу і дорівнює співвідношенню ЛД50 / ЕД50. Розрахунки показали, що ТІ для сполуки ВО-60 складає 852,13 мг/кг, що свідчить про високу безпеку сполуки ВО-60, як потенційного аналгетичного засобу з достатньою широтою терапевтичної дії.

Виходячи з того факту, що більшість існуючих сучасних аналгетиків здатні викликати НПВС-гастропатії, наступним фрагментом дослідження було вивчення ulcerогенної дії речовини ВО-60. Проводячи огляд слизових оболонок шлунків тварин, які отримували ВО-60 в дозі 50 мг/кг та 100 мг/кг, у жодному із зразків шлунків не виявлено будь-яких змін: слизова оболонка має рожевий колір, поверхня однорідної структури [7].

При огляді слизових оболонок тварин, що отримували розчин речовини ВО-60 в дозі 1000

мг/кг, у 40% тварин було виявлено ураження слизових оболонок шлунка у вигляді 2-3 невеликих (діаметром 0,1-0,3 мм) ерозій та зміна кольору слизової оболонки (більш насичений) біля них. Виразковий індекс (ВІ) при використанні сполуки ВО-60 у зазначеній дозі дорівнював 0,4.

В той же час проводячи огляд слизових оболонок шлунків тварин, що отримували дослідну речовину в дозі 2000 мг/кг, зміни слизової оболонки виявлено у 60% тварин. Було виявлено по 3-4 ерозії діаметром 0,5-1,0 мм з більш насиченим кольором навколо них. ВІ в зазначених умовах експерименту дорівнював 0,696. Слід також зазначити, що ВІ диклофенаку натрію в дозі 5 мг/кг дорівнює 0,528 [7].

За результатами обробки отриманих даних з вивчення ulcerогенної дії сполуки ВО-60 методом пробіт-аналізу отримано залежність ulcerогенної дії від дози введеної речовини (див. табл.5).

Таким чином, було встановлено, що УД₅₀ для сполуки ВО-60 складає 1582,01 мг/кг.

Враховуючи отриманні за допомогою пробіт-аналізу параметри ефективності та ulcerогенної дії сполуки ВО-60, на їх основі було розраховано індекс безпеки (ІБ), який являє собою співвідношення УД₅₀ / ЕД₅₀, і є показником безпеки будь-якого лікарського засобу. Розрахунки показав

ли, що ІБ сполуки ВО-60 дорівнює 141,5, який порівняно з аналогічними показниками інших знебо-

люючих лікарських засобів можна вважати досить високим.

Таблиця 4. Параметри ульцерогенної дії речовини ВО-60 в умовах перорального застосування

УД ₁₀ , мг/кг	УД ₁₆ , мг/кг	УД ₅₀ , мг/кг	УД ₈₄ , мг/кг	УД ₁₀₀ , мг/кг
2933,51	2636,44	1582,01	527,58	0,373

Висновки:

1. Методом пробіт-аналізу встановлено, що ЛД₅₀ речовини ВО-60 становить 9526,86 мг/кг, тому її можна віднести до IV класу токсичності (малотоксична сполука).

2. Виражений анальгетичний ефект сполука ВО-60 проявляє в дозі 11,18 мг/кг (ЕД₅₀). При цьому терапевтичний індекс дорівнює 852,13.

3. ВО-60 спричиняє незначну ульцерогенну

дію (УД₅₀ сполуки становить 1582,01 мг/кг). При цьому індекс безпеки дорівнює 141,5.

Перспективи подальших досліджень. Враховуючи низьку токсичність та високу ефективність сполуки ВО-60, можна вважати її досить перспективною в аспекті подальших досліджень, зокрема поглиблене вивчення центрального компоненту та визначення механізму знеболення.

ЛІТЕРАТУРА:

1. **Стефанов А.В.** Доклинические исследования лекарственных средств: Методические рекомендации / Под ред. член-кор. АМН Украины Стефанова А.В. – К.:Издат.дом «Авицена», 2002. – с. 312-313.
2. Разработка оптимального режима дозирования тиотриазолина при синдроме длительного раздавливания/ **В.Д. Лукьянчук, Д.М. Болгов, Д.С. Кравец**// Буковинський медичний вісник.-2002.-Т.6, №3.- С.177-181.
3. Розробка режиму дозування пентоксифіліну при синдромі довготривалого розчавлювання з використанням елементів математичного аналізу/ **В.Д. Лук'яничук, О.А. Коробков, Д.С. Кравець** // Ліки.-2000.- №4.- С.91-94.
4. **Щеткина Е.Г.** Проблемы наркотических анальгетиков/ Е.Г.Щеткина, С.М.Дрогвоз // Ліки України. – 2007. - №112 (додаток). – С. 188-191.
5. **Шварц Г. Я.** Анализ основных факторов риска гастротоксичности современных нестероидных противовоспалительных препаратов / Г. Я.Шварц // Український ревматологічний журнал.-2007.- №3(29).- С. 52-57.
6. **Георгиянц В.А.** Противовоспалительная и анальгетическая активность у-(R-бензолксамидо)-бутановых кислот/ В.А.Георгиянц, Н.И.Банная,

- В.Н.Савченко // Ліки України. – 2007. - №112 (додаток). – С. 188-191.
7. **Зупанець І.В.** До характеристики гастротоксичної дії нестероїдних протизапальних засобів – неселективних, селективних і специфічних інгібіторів ЦОГ-2 / І.В. Зупанець, Е.Ю.Андреева // Ліки України. – 2005. - №4. – С. 113-114.
8. **Юнкеров В.И.** Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В.И. Юнкеров, С.Г. Григорьев. – СПб: ВмедЛ, 2002. С.145.
9. **Реброва О.Ю.** Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М.: Медиа-Сфера, 2002. С. 215.
10. **Сидоров К.К.** Токсикология новых промышленных химических веществ / К.К. Сидоров – М.: Медицина, 1973.– Вып. 3. – 47 с.
11. **Сомова Н. Н.** Специфическая активность инъекционной формы кетопрофена 10% в опытах на лабораторных животных./ Н. Н. Сомова, Б. В. Виолин // Аграрная наука. – 2004. - №10. – С. 18-20.
12. **Усенко Л. В.** Современные аспекты рационального обезболивания в общеврачебной практике./ Л. В.Усенко, Э. Э Звартау, М. Л. Макарянц // Провизор. – 2000. - № 7. – С. 25-27.

Савченкова Л.В., Янкович С.І. Дослідження параметрів токсичності та ефективності речовини во-60 як потенційного анальгетика // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 4. – С. 162-164.

Пробітним методом Літчфілда-Віллоксона проведено комплексне дослідження параметрів токсичності та ефективності сполуки ВО-60, за результатами якого встановлено, що ЛД₅₀ речовини ВО-60 становить 9526,86 мг/кг, виражений анальгетичний ефект сполука проявляє в дозі 11,18 мг/кг (ЕД₅₀) та спричиняє незначну ульцерогенну дію (УД₅₀ сполуки становить 1582,01 мг/кг).

Ключові слова: речовина ВО-60, пробітний метод Літчфілда-Віллоксона, ЛД₅₀, ЕД₅₀, УД₅₀.

Савченкова Л. В., Янкович С.И. Исследование параметров токсичности и эффективности соединения во-60 как потенциального анальгетика // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 4. – С. 162-164.

Пробитным методом Литчфилда-Вилкоксона проведено комплексное исследование токсичности и безопасности соединения ВО-60, по результатам которого установлено, что ЛД₅₀ вещества ВО-60 составляет 9526,86 мг/кг, анальгетический эффект соединения проявляет в дозе 11,12 мг/кг (ЕД₅₀), вызывая незначительное ульцерогенное действие (УД₅₀ соединения равно 1582,01 мг/кг).

Ключевые слова: вещество ВО-60, пробитный метод Литчфилда-Вилкоксона, ЛД₅₀, ЕД₅₀, УД₅₀.

Savchenkova L.V., Yankovich S.I. Investigation of the parameters of toxicity and effectiveness of the substance vo-60 as potential analgesics // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 4. – С. 162-164.

conducted research by probit method of Litchfield-Vilkokoson the results of which established, that the substance ВО-60 in LD₅₀ is 9526,86 mg/kg, expressed the analgesic effect of compound exhibits dose of 11,12 mg/kg (ED₅₀) and causes a slight ulcerogenic action (UD₅₀ compounds is 1582,01 mg/kg).

Keywords: substance ВО-60, probit method of Litchfield-Vilkokoson, LD₅₀, ED₅₀, UD₅₀.

Надійшла 12.06.2011 р.
Рецензент: проф. Н.К.Казимірко